

XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG KHÁNG KHÁNG SINH (KIỂU HÌNH, KIỂU GEN) CỦA CÁC CHỦNG *PASTEURELLA MULTOCIDA* PHÂN LẬP TỪ LỢN

Vũ Khắc Hùng¹, Trịnh Thị Thu Hằng¹,
Trần Xuân Hạnh², Nguyễn Thị Thịnh¹

TÓM TẮT

Chúng tôi kiểm tra khả năng mẫn cảm của 83 chủng *P. multocida* với 15 loại kháng sinh khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng được kiểm tra kháng với amoxicillin (75,9%), tetracycline (59%), tiếp theo là kanamycin (15,7%), amikacin (15,7%), gentamicin (14,5%), ampicillin (9,6%) và erythromycin (9,6%). Dưới 5% số chủng kiểm tra kháng với chloramphenicol (4,8%). Tất cả các chủng đều mẫn cảm với các loại kháng sinh: cephalixin, cefortaxime, ceftriaxone, ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin và enrofloxacin. Kết quả kiểm tra sự có mặt của các gen kháng ampicillin, gentamicin, chloramphenicol và tetracycline cho thấy 63/83 chủng mang ít nhất 1 gen kháng lại 4 kháng sinh nêu trên. Trong số 83 chủng *P. multocida* kiểm tra có 12 chủng mang gen *Bla_TEM* và/hoặc *Bla_ROB1*; 5/83 chủng dương tính với gen *floR*; 52/83 chủng mang ít nhất 1 trong 3 gen kháng tetracycline (*tetB*, *tetH*, và *tetO*) trong đó gen *tetB* là phổ biến nhất (38/52), tiếp theo là gen *tetH* (18/52) và gen *tetO* (4/52); 12/83 chủng mang gen *aacA*. Trong số 63 chủng mang gen kháng kháng sinh có 8 chủng cùng một lúc mang nhiều loại gen kháng kháng sinh khác nhau. Có sự tương quan thuận giữa kiểu gen và kiểu hình trong số các chủng kháng gentamicin và tetracycline, có 7/12 chủng kháng gentamicin mang gen *aacA* và 39/49 chủng kháng tetracycline mang ít nhất 1 trong 3 gen (*tetB*, *tetH* và *tetO*).

Từ khóa: Kháng kháng sinh, chủng *P. multocida*, kiểu gen, kiểu hình.

Determination of antibiotic resistance (phenotype and genotype) of *Pasteurella multocida* isolated from swines

Vu Khắc Hung, Trịnh Thị Thu Hằng,
Tran Xuan Hanh, Nguyen Thi Thinh

SUMMARY

We investigated the antimicrobial susceptibility of 83 *P. multocida* strains with 15 different antibiotics. The studied results showed that *P. multocida* strains were resistant to amoxicillin (75.9%), tetracycline (59%), and followed by kanamycin (15.7%), amikacin (15.7%), gentamicin (14.5%), ampicillin (9.6%) and erythromycin (9.6%). Less than 5% of the strains were resistant to chloramphenicol (4.8%). All of the 83 strains were susceptible to: cephalixin, cefortaxime, ceftriaxone, ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin and enrofloxacin. The results of Polymerase Chain Reactions (PCR) detecting ampicillin, gentamicin, chloramphenicol and tetracycline resistance genes showed that 63 out of 83 *P. multocida* strains carried at least one of four antibiotic resistance genes. Among 83 strains tested: 12 strains harbored *Bla_TEM* and/or *Bla_ROB1* gene; 5 strains possessed *floR* resistance gene; 52 strains carried at least one of three tetracycline resistance genes (*tetB*, *tetH*, and *tetO*), of which *tetB* resistance gene was the most prevalent (38/52), followed by *tetH* (18/52) and *tetO* (4/52) resistance genes; and 12 strains were positive for *aacA*. There were 8 out of 63 strains carried several antibiotic resistance genes in each. There was a

¹ Bộ môn Công nghệ sinh học, Phân viện Thú y miền Trung

² Công ty Navetco

positive correlation between phenotype and genotype in the strains resistant to gentamicin and tetracycline as 7 out of 12 strains resistant to gentamicin carried *aacA* gene and 39 out of 49 strains resistant to tetracycline harbored at least one of three resistance genes (*tetB*, *tetH* and *tetO*).

Keywords: Antibiotic resistance, *P. multocida* strain, genotype, phenotype.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, bệnh tụ huyết trùng lợn trước đây xảy ra mạnh ở các tỉnh phía Nam và xảy ra lẻ tẻ ở các tỉnh phía Bắc. Trong những năm 70, có 80% số ổ dịch và 84% số gia súc thiệt hại do bệnh tụ huyết trùng thuộc về các tỉnh ở phía Nam. Đến những năm 90, phân bố địa lý của bệnh nghiêng về các tỉnh phía Bắc, số địa phương có dịch tụ huyết trùng cũng tăng lên nhiều, hàng năm có 20 - 25 tỉnh thông báo có bệnh lưu hành (Bùi Quý Huy, 1998). Mặc dù kháng sinh đã được sử dụng rộng rãi để điều trị bệnh tụ huyết trùng trên lợn, nhưng việc sử dụng bừa bãi dẫn đến tình trạng kháng thuốc trong các chủng vi khuẩn gây bệnh (Kumar và cs., 2009; Shivachandra và cs., 2004; Tang và cs., 2009), ảnh hưởng đến phác đồ điều trị (Kehrenberg và cs., 2001). Mặt khác, tình trạng kháng kháng sinh ở các chủng vi khuẩn gây bệnh có nguồn gốc từ động vật và môi trường đã được công nhận là vấn đề toàn cầu đối với sức khỏe con người (White và cs., 2002). Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng việc sử dụng kháng sinh không đúng cách làm tăng nguy cơ vi khuẩn kháng thuốc và làm tăng khả năng lan truyền các gen kháng kháng sinh nằm trên plasmid, integron và transposons (Hunt và cs., 2000; Kehrenberg và cs., 2001). Khả năng kháng kháng sinh của các chủng *Pasteurella multocida* thay đổi tùy theo nguồn gốc vật chủ, thời gian nhiễm bệnh, vị trí địa lý, tiền sử tiếp xúc với kháng sinh và khả năng tiếp nhận gen kháng kháng sinh từ vật chủ khác (Kehrenberg và cs., 2001). Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tính mẫn cảm kháng sinh và sự tồn tại của một số gen kháng kháng sinh ở các chủng *P. multocida* phân lập tại Việt Nam. Kết quả thu được giúp chúng ta đánh giá chính xác về tình trạng kháng kháng sinh ở các chủng vi khuẩn *P. multocida* nói riêng và vi khuẩn gây bệnh nói chung tại Việt Nam. Đây là cơ sở để điều

chỉnh việc lựa chọn và sử dụng kháng sinh hợp lý và hiệu quả trong điều trị bệnh tụ huyết trùng do vi khuẩn *P. multocida* gây ra ở lợn. Đồng thời là cảnh báo cho tình trạng lạm dụng kháng sinh trong công tác phòng trừ bệnh cho vật nuôi hiện nay.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định tính mẫn cảm của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được với 15 loại kháng sinh khác nhau.

- Xác định các gen kháng kháng sinh thuộc nhóm β -lactam, tetracycline, chloramphenicol, gentamicin.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Chủng vi khuẩn: 83 chủng vi khuẩn *P. multocida* được cung cấp bởi các Chi cục Thú y vùng, Trung tâm chẩn đoán thú y trung ương, công ty NAVETCO. Các chủng giống hiện tại được lưu giữ trong glycerol 30% và bảo quản ở -80°C tại Phân viện Thú y miền Trung.

- Các đĩa giấy tẩm kháng sinh được cung cấp bởi hãng Oxoid gồm: amikacin (30µg), ampicillin (10µg), amoxicilin (10µg), cephalixin (30µg), cefortaxime (30µg), ceftriaxone (30), erythromycin (15µg), kanamycin (30µg), gentamicin (10µg), ofloxacin (5µg), pefloxacin (5µg), ciprofloxacin (5µg), enrofloxacin (5µg) chloramphenicol (30µg), tetracycline (30µg).

Môi trường hóa chất nuôi cấy vi khuẩn: BHI (Brain Heart Infusion) và TSA agar bổ sung 10% máu thỏ nuôi cấy vi khuẩn *P. multocida*.

Các cặp môi sử dụng cho phản ứng xác định các gen kháng kháng sinh được cung cấp bởi công ty 1st BASE - Singapore.

Bảng 1. Các cặp mồi sử dụng trong phản ứng PCR để xác định gen kháng kháng sinh

Nhóm kháng sinh	Gen	Trình tự nucleotide	Sản phẩm PCR (bp)	Trích dẫn
β -lactam	<i>Bla_TEM</i>	5'-GAGTATTCAACATTTTCGT-3' 5'-ACCAATGCTTAATCAGTGA-3'	852	Dayao và cs. (2016)
	<i>Bla_ROB1</i>	5'-CATTAACGGCTTGTTTCGC-3' 5'-CTTGCTTTGCTGCATCTTC-3'	856	
	<i>tetB</i>	5'-CCTTATCATGCCAGTCTTGC-3' 5'-ACTGCCGTTTTTTTCGCC-3'	774	
Tetracycline	<i>tetH</i>	5'-ATACTGCTGATCACCGT-3' 5'-TCCCAATAAGCGACGCT-3'	1076	Ahmed và cs. (2007)
	<i>tetO</i>	5'-TAACTTAGGCATTCTGGCTC-3' 5'-TCAAGCAGACTCCCTGCCCATTTGT-3'	1801	
	<i>floR</i>	5'-CACGTTGAGCCTCTATATGG-3' 5'-ATGCAGAAGTAGAACGCGAC-3'	885	
Gentamicin	<i>aacA4</i>	5'-CTCGAATGCCTGGCGTGT-3' 5'-TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA-3'	482	Wang và cs. (2017)

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá tính mẫn cảm của vi khuẩn với kháng sinh: được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên thạch theo hướng dẫn của Viện tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm Hoa Kỳ (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013). Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường BHI cho đến khi mật độ tế bào được xác định bằng cách đo giá trị OD_{600nm} đạt $\approx 0,5$ thì được trải đều trên các đĩa thạch TSA được bổ sung 10% máu thỏ, để khô trong vài phút. Các đĩa giấy tẩm kháng sinh được đặt trên bề mặt đĩa thạch, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 18 giờ. Các vòng ức chế sinh trưởng được đo bằng thước. Các chủng được phân loại là nhạy cảm, trung gian và kháng kháng sinh dựa trên tiêu chuẩn đường kính vòng kháng khuẩn được cung cấp bởi CLSI (2013).

Xác định gen kháng kháng sinh bằng phản ứng PCR: Phương pháp chiết tách DNA, thành phần của phản ứng PCR, chu trình nhiệt để xác định các gen *Bla_TEM*, *Bla_ROB1*, *tetB*, *tetH*, *tetO* được thực hiện theo như mô tả của Dayao và cs. (2016); gen *floR* và *aacA4* lần lượt theo mô tả của Ahmed và cs. (2007), Wang và cs. (2017).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kháng sinh đồ

83 chủng *P. multocida* phân lập từ lợn bị bệnh tụ huyết trùng được kiểm tra tính mẫn cảm với 15 loại kháng sinh (bảng 2). Kết quả cho thấy phần lớn các chủng được kiểm tra đều kháng với amoxicillin (75,9%), tetracycline (59%), tiếp theo là kanamycin (15,7%), amikacin (15,7%), gentamicin (14,5%), ampicillin (9,6%) và erythromycin (9,6%); dưới 5% số chủng kiểm tra kháng với chloramphenicol (4,8%). Tất cả các chủng đều mẫn cảm với các loại kháng sinh: cephalixin, cefortaxime, ceftriaxone, ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin và enrofloxacin. Cho đến nay, kháng sinh vẫn là công cụ hiệu quả nhất để điều trị bệnh tụ huyết trùng do vi khuẩn *P. multocida* gây ra. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy các loại kháng sinh mẫn cảm nhất đối với các chủng *P. multocida* phân lập từ lợn bị bệnh là: cephalixin, cefortaxime, ceftriaxone, ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin và enrofloxacin. Đây là các loại kháng sinh cũng đã được báo cáo là rất nhạy cảm với các chủng *P. multocida* phân lập từ lợn bị bệnh ở Pháp (Lion và cs., 2006) và Trung

Quốc (Tang và cs., 2009). Tỷ lệ các chủng kháng lại với một số kháng sinh thông dụng như kanamycin, amikacin, gentamicin, ampicillin, erythromycin từ 9,6%-15,7% số chủng kiểm tra. Do đó, nếu sử dụng các loại kháng sinh này để điều trị bệnh do vi khuẩn *P. multocida* thì hiệu quả sẽ không cao. Tỷ lệ lớn các chủng *P. multocida* phân lập từ lợn bị bệnh tụ huyết trùng kháng lại kháng sinh amoxicillin và tetracycline đã được báo cáo tại Cuba (Espinosa và cs., 2012), Trung Quốc (Tang và cs., 2009) và Đài Loan (kháng amoxicillin). Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy phần lớn các chủng *P. multocida* phân lập ở Việt Nam cũng kháng lại với amoxicillin (75,9%) và tetracycline (59%).

Ngược lại, đa số các chủng *P. multocida* phân lập từ lợn tại Brazil lại mẫn cảm với amoxicillin và tetracycline (Espinosa và cs., 2012; Furian và cs., 2016). Điều này có thể giải thích là tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *P. multocida* thay đổi tùy theo vùng địa lý khác nhau cũng như các phương pháp và loại kháng sinh đã được sử dụng trước đó ở các vùng nhất định. Chloramphenicol là kháng sinh đã bị cấm sử dụng trong chăn nuôi ở đa số các quốc gia, trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ tìm thấy 4,8% số chủng kháng lại với kháng sinh này. Kết quả tương tự cũng được Petrocchi-Rilo và cs. (2019) báo cáo tại Tây Ban Nha.

Bảng 2. Tính mẫn cảm kháng sinh của 83 chủng *Pasteurella multocida* xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

TT	Kháng sinh	Mẫn cảm	Trung gian	Kháng
1	Amoxicillin	13 (15,7%)	7 (8,4%)	63 (75,9%)
2	Tetracycline	24 (28,9%)	10 (12%)	49 (59%)
3	Kanamycin	70 (84,3%)	-	13 (15,7%)
4	Amikacin	68 (81,9%)	2 (2,4%)	13 (15,7%)
5	Gentamicin	71 (85,5%)	-	12 (14,5%)
6	Ampicillin	70 (84,3%)	5 (6%)	8 (9,6%)
7	Erythromycin	66 (79,5%)	9 (10,8%)	8 (9,6%)
8	Chloramphenicol	79 (95,2%)	-	4 (4,8%)
9	Cephalexin	83 (100%)	-	0 (0%)
10	Cefortaxime	83 (100%)	-	0 (0%)
11	Ceftriaxone	79 (95,2%)	4 (4,8%)	0 (0%)
12	Ofloxacin	83 (100%)	-	0 (0%)
13	Pefloxacin	83 (100%)	-	0 (0%)
14	Ciprofloxacin	81 (97,6%)	2 (2,4%)	0 (0%)
15	Enrofloxacin	83 (100%)	-	0 (0%)

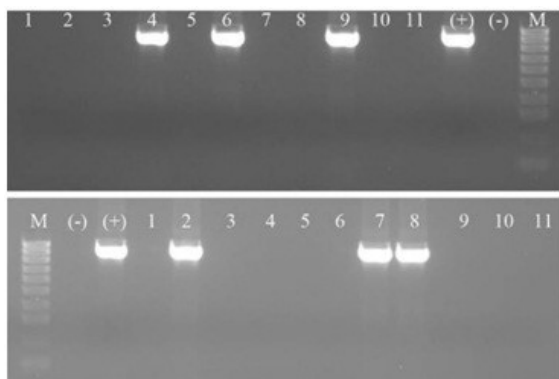
3.2. Kết quả xác định các gen kháng kháng sinh

Song song với kiểm tra tính mẫn cảm kháng sinh của các chủng *P. multocida* bằng phương pháp

khếch tán trên thạch, chúng tôi kiểm tra sự lưu hành của các gen kháng ampicillin, gentamicin, chloramphenicol và tetracycline bằng phương pháp PCR (bảng 3).

Bảng 3. Sự phân bố của các gen quy định tính kháng kháng sinh ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, tetracycline và mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình (n = 83)

Kháng sinh	Gen kháng kháng sinh	Số chủng dương tính	Tương quan kiểu gen và kiểu hình
Ampicillin	<i>Bla_TEM</i>	6 (7,2%)	
	<i>Bla_ROB1</i>	12 (14,5%)	
	Mang ít nhất 1 trong 2 gen	15 (18%)	4/8 (50%)
Chloramphenicol	<i>floR</i>	5 (6%)	1/4 (25%)
Gentamicin	<i>aacA4</i>	7 (8,4%)	7/12 (58%)
Tetracycline	<i>tetB</i>	38 (45,8%)	
	<i>tetH</i>	18 (21,7%)	
	<i>tetO</i>	4 (4,8%)	
	Mang ít nhất 1 trong 3 gen	52 (62,65%)	39/49 (79,6%)



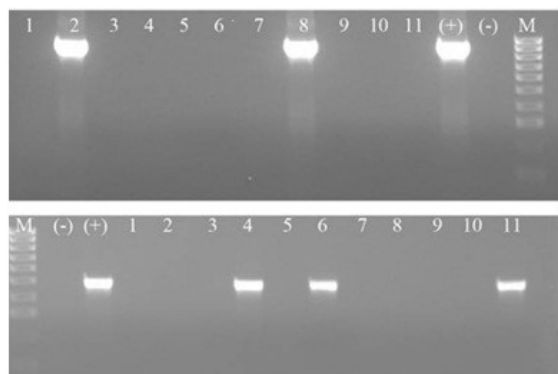
Hình 1. Kết quả phản ứng PCR kiểm tra gen *Bla_TEM* và *Bla_ROB1* ở các chủng *P. multocida*
M: thang chuẩn DNA (100bp), (-): đối chứng âm, (+): đối chứng dương, 1-11: mẫu kiểm tra

Khả năng kháng kháng sinh nhóm β -lactam, điển hình là ampicillin ở vi khuẩn gram âm là enzyme β -lactamase được mã hóa bởi gen *Bla_TEM* hoặc *Bla_ROB1*. Trong số 83 chủng *P. multocida* kiểm tra, 15 chủng được xác định dương tính với gen *Bla_TEM* và/hoặc *Bla_ROB1*. Sự tương quan giữa kiểu gen (không có mặt hoặc có mặt của gen kháng kháng sinh) và kiểu hình (khả năng kháng kháng sinh khi kiểm tra bằng phương pháp khuếch tán trên thạch) của ampicillin là không cao bởi vì chỉ có 4/8 chủng kháng ampicillin (kiểu hình) mang gen *Bla_TEM* và/hoặc *Bla_ROB1*. Một nghiên cứu trước đây đã ghi nhận rằng tính

kháng ampicillin và penicillin ở vi khuẩn gram âm chủ yếu liên quan đến gen *Bla_TEM* (Sundae và Norstrom, 2006). Tuy nhiên trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tìm thấy 6 và 12 trong số 83 chủng *P. multocida* có chứa gen *Bla_TEM* và *Bla_ROB1*, tương ứng. Kết quả này của chúng tôi cho thấy rằng *Bla_ROB1* mới chiếm vai trò nổi trội quy định tính kháng kháng sinh β -lactam ở vi khuẩn *P. multocida*.

Florfenicol là một dẫn xuất flouride của chloramphenicol. Gen *floR* quy định khả năng kháng kháng sinh florfenicol đồng thời cũng kháng chloramphenicol. Trong nghiên cứu này, 5/83 chủng được xác định dương tính với gen *floR* nhưng chỉ có 1/4 chủng kháng với chloramphenicol (khi kiểm tra bằng phương pháp khuếch tán trên thạch) mang gen này. Gen *floR* được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1996 trên một plasmid trong mầm bệnh *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* (Kim và Aoki, 1996). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tìm thấy 5 chủng *P. multocida* chứa gen này và chỉ có một chủng cho thấy kiểu hình kháng chloramphenicol. Ngược lại, mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của các chủng kháng gentamicin là khá cao, có 7/12 chủng kháng gentamicin mang gen *aacA*. Đây là một gen mã hóa enzyme biến đổi kháng sinh aminoglycoside và được xác định tham gia vào

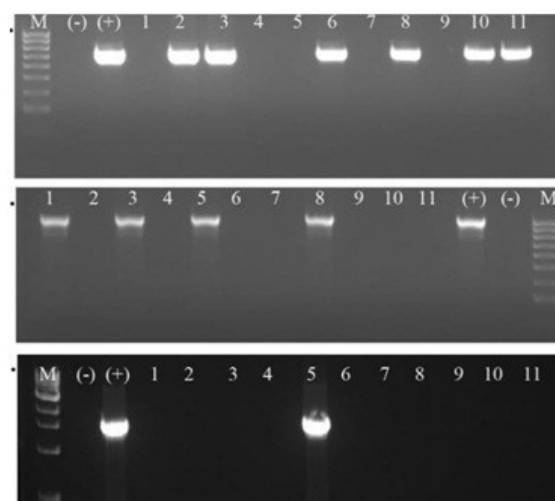
cơ chế kháng gentamicin (Garneau-Tsodikova và Labby, 2016). Gen này được ghi nhận là thường xuyên được phát hiện ở các chủng *P. multocida* phân lập ở Trung Quốc (Tang và cs., 2009). Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi cho thấy *aacA4* ít gặp hơn ở các chủng *P. multocida* vì chỉ có 7/83 chủng dương tính với gen này (bảng 3).



Hình 2. Kết quả PCR kiểm tra gen *floR* và *aacA4* ở các chủng *P. multocida*

M: thang chuẩn DNA (100bp), (-): đối chứng âm, (+): đối chứng dương, 1-11: mẫu kiểm tra

Khả năng kháng tetracycline của các chủng *P. multocida* được xác định chịu sự kiểm soát của các gen *tetB*, *tetH* và *tetO* (Millan và cs., 2009). Trong nghiên cứu này, chúng tôi kiểm tra sự hiện diện của 3 gen này ở 83 chủng *P. multocida*. Kết quả cho thấy 52/83 chủng *P. multocida* mang ít nhất 1 trong 3 gen (*tetB*, *tetH*, và *tetO*), trong đó *tetB* là phổ biến nhất (38/52), tiếp theo là *tetH* (18/52) và *tetO* (4/52). Sự tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của các chủng kháng tetracycline là khá cao, trong đó 39/49 chủng kháng khi kiểm tra bằng phương pháp khếch tán trên thạch mang ít nhất 1 trong 3 gen này. Tương tự như phát hiện của chúng tôi, mối tương quan mạnh mẽ giữa kiểu gen và kiểu hình của tetracycline đã được báo cáo ở các chủng *P. multocida* ở Úc (Dayao và cs., 2016) và Tây Ban Nha (Petrocchi-Rilo và cs., 2019).



Hình 3. Kết quả PCR kiểm tra gen *tetH*, *tetB* và *tetO* ở các chủng *P. multocida*

M: thang chuẩn DNA (100bp), (-): đối chứng âm, (+): đối chứng dương, 1-11: mẫu kiểm tra

Kết quả thống kê tổng quát cho thấy, 63/83 chủng mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh mà chúng tôi kiểm tra, điều này chứng tỏ rằng nguy cơ xuất hiện các chủng *P. multocida* kháng kháng sinh tại Việt Nam là rất cao. Mặt khác, 8 chủng được xác định mang nhiều gen kháng kháng sinh khác nhau (đa kháng), có nghĩa là chúng có khả năng kháng lại nhiều loại kháng sinh khác nhau.

IV. KẾT LUẬN

Các chủng *P. multocida* được kiểm tra đều kháng với amoxicillin (75,9%), tetracycline (59%), tiếp theo là kanamycin (15,7%), amikacin (15,7%), gentamicin (14,5%), ampicillin (9,6%) và erythromycin (9,6%). 63/83 chủng mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh, điều này chứng tỏ rằng tỷ lệ kháng kháng sinh ở các chủng *P. multocida* tại Việt Nam là rất cao. Trong đó, 8/83 chủng cùng một lúc mang nhiều loại gen kháng kháng sinh khác nhau, đây là những chủng tiềm ẩn khả năng kháng nhiều loại kháng sinh khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Quý Huy, 1998. Một số đặc điểm bệnh tụ huyết trùng ở Việt Nam trong những năm qua. *Khoa học kỹ thuật thú y*, tập 5, số 1, Hội Thú y Việt Nam.
2. Ahmed, A., A. Hussein, and S. T., 2007. *Proteus mirabilis* clinical isolate harbouring a new variant of *Salmonella* genomic island 1 containing the multiple antibiotic resistance region. *J Antimicrob Chemother.* 59:184-190.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animal - second informational supplement - Document VET01-S2, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute.
4. Dayao, D., J. Gibson, P. Blackall, and C. Turni, 2016. Antimicrobial resistance genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis* and *Pasteurella multocida* isolated from Australian pigs. *Aust. Vet. J.* 94:227-231.
5. Espinosa, I., M. Báez, J. Vichi, and S. Martínez, 2012. Antimicrobial resistance and genes associated to the host-microbe interaction of *Pasteurella multocida* isolates from swine in Western Cuba. *Salud Anim.* 34:151-158.
6. Furian, T., K. Borges, V. Laviniki, S. Rocha, C. de Almeida, V. do Nascimento, C. Salle, and H. Moraes, 2016. Virulence genes and antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from poultry and swine. *Braz J Microbiol.* 47:210-216.
7. Garneau-Tsodikovaa, S., and K.J. Labby, 2016. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: Overview and perspectives. *Medchemcomm.* 7:11-27.
8. Hunt, M., B. Adler, and K. Townsend, 2000. The molecular biology of *Pasteurella multocida*. *Vet Microbiol.* 72:3-25.
9. Kehrenberg, C., G. Schulze-Tanzil, J. Martel, E. Chaslus-Dancla, and S. Schwarz, 2001. Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Vet. Res.* 32:323-339.
10. Kim, E.H., and T. Aoki, 1996. Sequence analysis of the florfenicol resistance gene encoded in the transferable R-plasmid of the fish pathogen, *Pasteurella piscicida*. *Microbiol. Immunol.* 40:665-669.
11. Kumar, P., V. Singh, R. Agrawal, and S. Singh, 2009. Identification of *Pasteurella multocida* isolates of ruminant origin using polymerase chain reaction and their antibiogram study. *Trop. Anim. Health Prod.* 4:573-578.
12. Lion, C., M. Conroy, A. Carpentier, and A. Lozniewski, 2006. Antimicrobial susceptibilities of *Pasteurella* strains isolated from humans. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 27:290-293.
13. Millan, A.S., J.A. Escudero, B. Gutierrez, L. Hidalgo, N. Garcia, M. Llagostera, L. Dominguez, and B. Gonzalez-Zorn, 2009. Multiresistance in *Pasteurella multocida* is mediated by coexistence of small plasmids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53:3399-3404.
14. Petrocchi-Rilo, M., C.B. Gutierrez-Martin, J.I. Mendez-Hernandez, E.F. Rodriguez-Ferri, and S. Martinez-Martinez, M., 2019. Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolates recovered from swine pneumonia in Spain throughout 2017 and 2018. *J. Vet. Anim. Sci.* 7: 100044.
15. Shivachandra, S., A. Kumar, A. Biswas, M. Ramakrishnan, V. Singh, and S. Srivastava, 2004. Antibiotic sensitivity patterns among Indian strains of avian *Pasteurella multocida*. *Trop Anim Health Prod.* 36:743-750.
16. Sundae, M., and M. Norstrom, 2006. The prevalence of associations between and conjugal transfer of antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolated from Norwegian meat and meat products. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:741-747.
17. Tang, X., Z. Zhao, J. Hu, B. Wu, X. Cai, Q. He, and H. Chen, 2009. Isolation, antimicrobial resistance and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J. Clin. Microbiol.* 47:951-958.
18. Wang, Z., L. Kong, B. Jia, S. Liu, X. Jiang, and H. Ma, 2017. Aminoglycoside susceptibility of *Pasteurella multocida* isolates from bovine respiratory infections in China and mutations in ribosomal protein S5 associated with high-level induced spectinomycin resistance. *J. Vet. Med. Sci.* 79:1678-1681.
19. White, D.G., S. Zhao, S. Simjee, D.D. Wagner, and P.F. McDermott, 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes Infect.* 4:405-412.

Ngày nhận 24-4-2020

Ngày phản biện 12-5-2020

Ngày đăng 1-9-2020